

6710/088525
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

M.S

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PWO-20533	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/06873	International filing date (day/month/year) 02 October 2000 (02.10.00)	Priority date (day/month/year) 12 October 1999 (12.10.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 45/00, A61P 17/02		RECEIVED OCT 07 2002
Applicant FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.		TECH CENTER 1600/2900

- This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
- This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).
 These annexes consist of a total of _____ sheets.
- This report contains indications relating to the following items:
 - I ☒ Basis of the report
 - II ☐ Priority
 - III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
 - IV ☐ Lack of unity of invention
 - V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
 - VI ☐ Certain documents cited
 - VII ☐ Certain defects in the international application
 - VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 16 April 2001 (16.04.01)	Date of completion of this report 08 January 2002 (08.01.2002)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/06873

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 00/06873

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims		YES
	Claims	1	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: R. Heinzel-Wieland et al., "inhibitory characteristics and oxidant resistance of site-specific variants of recombinant human antileukoproteinae (ALP)", Biomedica Biochimica Acta, 1991, Vol. 50, No. 4-6, pp. 677-681

Document 2: EP, 494071, A2 (Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.), 08 July 1992 (08.07.92) & US, 5296591, A & JP, 04-297446, A & EP, 494071, A3 & EP, 494071, B1 & FI, 9105996, A & AU, 9189853, A1 & AU, 641577, B2 & JP, 06-099378, B & RU, 2073684, C1 & CA, 2058560, AA & CN, 1063108, A & CN, 1040003, B & HU, 60507, A2 & HU, 210263, B & ZA, 9110200, A & NO, 9200035, A & AT, 151775, E & ES, 2099755, T3

Document 1, abstract, and Document 2, Claims 6 and 13-20, disclose a therapeutic agent for wounds, in which the active ingredient is a substance with human leukocyte elastase inhibiting activity. Claim 1 relates to therapeutic agents for intractable wounds, in which the active ingredient is a substance with human leukocyte elastase inhibiting activity, and therefore is not novel, because "wounds" include "intractable wounds".

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE
in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 25 June 2001 (25.06.01)	
International application No. PCT/JP00/06873	Applicant's or agent's file reference PWO-20533
International filing date (day/month/year) 02 October 2000 (02.10.00)	Priority date (day/month/year) 12 October 1999 (12.10.99)
Applicant TAKAKURA, Shoji et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
16 April 2001 (16.04.01)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Henrik Nyberg Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

P C T

国際予備審査報告


(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 25 JAN 2002

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 PWO-20533	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/06873	国際出願日 (日.月.年) 02.10.00	優先日 (日.月.年) 12.10.99
国際特許分類(IPC) Int. Cl ⁷ A61K45/00, A61P17/02		
出願人(氏名又は名称) 藤沢薬品工業株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 16.04.01	国際予備審査報告を作成した日 08.01.02		
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 渚下 浩 	4C	9284
電話番号 03-3581-1101 内線 3452			

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

1

有

請求の範囲

無

進歩性(I S)

請求の範囲

1

有

請求の範囲

無

産業上の利用可能性(I A)

請求の範囲

1

有

請求の範囲

無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: HEINZEL-WIELAND, R. et al, "Inhibitory characteristics and oxidant resistance of site specific variants of recombinant human antileukoproteinase (ALP).", BIOMEDICA BIOCHIMICA ACTA, 1991, Vol.50 No.4-6, pp.677-81

文献2: EP,494071,A2(FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO.,LTD.)

O 8. 7 月. 1 9 9 2 (08.07.92)

& US,5296591,A & JP,04-297446,A

& EP,494071,A3 & EP,494071,B1

& FI,9105996,A & AU,9189853,A1

& AU,641577,B2 & JP,06-099378,B

& RU,2073684,C1 & CA,2058560,AA

& CN,1063108,A & CN,1040003,B

& HU,60507,A2 & HU,210263,B

& ZA,9110200,A & NO,9200035,A

& AT,151775,E & ES,2099755,T3

文献1のAbstract、文献2のClaim 6, 13-20には、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする創傷の治療剤が記載されており、請求の範囲1は、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする難治性創傷治療剤に関するものであり、難治性創傷は創傷に包含されるものであるから、新規性を有しない。

PATENT COOPERATION TREAT.

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TABUSHI, Eiji
Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.
Osaka Factory
1-6, Kashima 2-chome
Yodogawa-ku, Osaka-shi
Osaka 532-8514
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 23 November 2000 (23.11.00)	
Applicant's or agent's file reference PWO-20533	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP00/06873	International filing date (day/month/year) 02 October 2000 (02.10.00)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 12 October 1999 (12.10.99)
Applicant FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al	

- The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
- An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
12 Octo 1999 (12.10.99)	11/289247	JP	17 Nove 2000 (17.11.00)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer Magda BOUACHA Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	--



国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
[P C T 1 8 条、P C T 規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 PWO-20533	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/06873	国際出願日 (日.月.年) 02.10.00	優先日 (日.月.年) 12.10.99
出願人 (氏名又は名称) 藤沢薬品工業株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K45/00, A61P17/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K45/00, A61P17/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN),
REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	HEINZEL-WIELAND, R. et al, "Inhibitory characteristics and oxidant resistance of site specific variants of recombinant human antileukoproteinase (ALP).", BIOMEDICA BIOCHIMICA ACTA, 1991, Vol. 50 No. 4-6, pp. 677-81, 特に、Abstract	1

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19.12.00

国際調査報告の発送日

26.12.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

滝原 下 浩一

4C

9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP, 494071, A2 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 08. 7月. 1992 (08. 07. 92) 文献全体、特に、 Claim 6, 13-20 &US, 5296591, A&JP, 04-297446, A &EP, 494071, A3&EP, 494071, B1 &FI, 9105996, A&AU, 9189853, A1 &AU, 641577, B2&JP, 06-099378, B &RU, 2073684, C1&CA, 2058560, AA &CN, 1063108, A&CN, 1040003, B &HU, 60507, A2&HU, 210263, B &ZA, 9110200, A&NO, 9200035, A &AT, 151775, E&ES, 2099755, T3	1
A	WO, 8600077, A1 (CORTECH, INC.) 03. 1月. 1986 (03. 01. 86) Abstract, Claims &EP, 182906, A1	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06873

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl.⁷ A61K45/00, A61P17/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl.⁷ A61K45/00, A61P17/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN),
REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HEINZEL-WIELAND, R. et al, "Inhibitory characteristics and oxidant resistance of site specific variants of recombinant human antileukoproteinase (ALP).", BIOMEDICA BIOCHIMICA ACTA, 1991, Vol.50 No.4-6, pp.677-81, especially, Abstract	1
X	EP, 494071, A2 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 08 July, 1992 (08.07.92), Full text, especially, Claim 6,13-20 & US, 5296591, A & JP, 04-297446, A & EP, 494071, A3 & EP, 494071, B1 & FI, 9105996, A & AU, 9189853, A1 & AU, 641577, B2 & JP, 06-099378, B & RU, 2073684, C1 & CA, 2058560, AA & CN, 1063108, A & CN, 1040003, B & HU, 60507, A2 & HU, 210263, B & ZA, 9110200, A & NO, 9200035, A & AT, 151775, E & ES, 2099755, T3	1
A	WO, 8600077, A1 (CORTECH, INC.), 03 January, 1986 (03.01.86),	1

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
--	---

Date of the actual completion of the international search
19 December, 2000 (19.12.00)

Date of mailing of the international search report
26 December, 2000 (26.12.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06873

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Abstract, Claims & EP, 182906, A1	

10/088525

国際予備審査報告

国際出願番号 PCT/JPO0/06873

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

請求の範囲

1

有

無

進歩性(IS)

請求の範囲

請求の範囲

1

有

無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲

請求の範囲

1

有

無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: HEINZEL-WIELAND, R. et al, "Inhibitory characteristics and oxidant resistance of site specific variants of recombinant human antileukoproteinase (ALP).", BIOMEDICA BIOCHIMICA ACTA, 1991, Vol.50 No.4-6, pp.677-81

文献2: EP,494071,A2(FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO.,LTD.)
O 8. 7月. 1992(08.07.92)
& US,5296591,A & JP,04-297446,A
& EP,494071,A3 & EP,494071,B1
& FI,9105996,A & AU,9189853,A1
& AU,641577,B2 & JP,06-099378,B2
& RU,2073684,C1 & CA,2058560,AA
& CN,1063108,A & CN,1040003,B
& HU,60507,A2 & HU,210263,B
& ZA,9110200,A & NO,9200035,A
& AT,151775,E & ES,2099755,T3

文献1のAbstract、文献2のClaim 6, 13-20には、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする創傷の治療剤が記載されており、請求の範囲1は、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする難治性創傷治療剤に関するものであり、難治性創傷は創傷に包含されるものであるから、新規性を有しない。



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 A61K 45/00, 38/03 // C07K 14/36, 5/093, C12P 1/06</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO99/43352</p> <p>(43) 国際公開日 1999年9月2日(02.09.99)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/00761</p> <p>(22) 国際出願日 1999年2月19日(19.02.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/41479 1998年2月24日(24.02.98) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 藤沢薬品工業株式会社 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.)(JP/JP) 〒541-8514 大阪府大阪市中央区道修町3丁目4番7号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 戴田次男(YABUTA, Tsuguo)(JP/JP) 〒567-0862 大阪府茨木市美沢町5F-510 Osaka, (JP) 安村 満(YASUMURA, Mitsuru)(JP/JP) 〒662-0053 兵庫県西宮市松園町5-37 Hyogo, (JP) 中原邦夫(NAKAHARA, Kunio)(JP/JP) 〒666-0261 兵庫県川辺郡猪名川町松尾台3-2-44 Hyogo, (JP) 古川雄輔(FURUKAWA, Yusuke)(JP/JP) 〒631-0845 奈良県奈良市宝来3-2-2 Nara, (JP)</p>		<p>野村和彦(NOMURA, Kazuhiko)(JP/JP) 〒569-0815 大阪府高槻市昭和台町2-2-7 Osaka, (JP) 村上 学(MURAKAMI, Manabu)(JP/JP) 〒565-0806 大阪府吹田市樫切山4-22-803 Osaka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 関 英男(SEKI, Hideo) 〒532-8514 大阪府大阪市淀川区加島2丁目1番6号 藤沢薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: PREVENTIVES/REMEDIES FOR SKIN AGING</p> <p>(54)発明の名称 皮ふの老化の予防、治療剤</p> <p>(57) Abstract Preventives/remedies for skin aging which contain as the active ingredient substances having an activity of inhibiting human leukocyte elastase.</p>		

(57)要約

ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする皮膚の老化の予防、治療剤。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	SD スーダン
AL アルバニア	EE エストニア	LC セントルシア	SE スウェーデン
AM アルメニア	ES スペイン	LI リヒテンシュタイン	SG シンガポール
AT オーストリア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SI スロヴェニア
AU オーストラリア	FR フランス	LR リベリア	SK スロヴァキア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LS レソト	SL シェラ・レオネ
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LT リトアニア	SN セネガル
BB バルバドス	GD グレナダ	LU ルクセンブルグ	SZ スワジランド
BE ベルギー	GE グルジア	LV ラトヴィア	TD チャード
BF ブルキナ・ファソ	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴ
BG ブルガリア	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BJ ベナン	GN ギニア	MG マダガスカル	TZ タンザニア
BR ブラジル	GW ギニア・ビサウ	MK マケドニア田ユーゴスラヴィア	TM トルクメニスタン
BY ベラルーシ	GR ギリシャ	共和国	TR トルコ
CA カナダ	HR クロアチア	マリ	TT トリニダード・トバゴ
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	ML モンゴル	UA ウクライナ
CG コンゴ	ID インドネシア	MN モンゴリア	UG ウガンダ
CH スイス	IE アイルランド	MR モーリタニア	US 米国
CI コートジボアール	IL イスラエル	MW マラウイ	UZ ウズベキスタン
CM カメルーン	IN インド	MX メキシコ	VN ヴィエトナム
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	YU ユーゴスラビア
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	ZA 南アフリカ共和国
CU キューバ	JP 日本	NO ノールウェー	ZW ジンバブエ
CY キプロス	KE ケニア	NZ ニュー・ジーランド	
CZ チェッコ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DK デンマーク	KR 韓国	RO ルーマニア	
		RU ロシア	

明 細 書

皮ふの老化の予防、治療剤

技術分野

この発明はヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する
5 物質を有効成分とする皮ふの老化の予防、治療剤に関するものである。

背景技術

皮ふの老化は30歳代から始まると言われている。皮ふ
の老化の所見としては、表面的には潤い、つや、なめら
10 かさ、はり等の減少、さらに、しわの増加が挙げられる。
これらは皮ふを構成している器官・組織の形態的および機能的変化に基づくものと考えられる。具体的には、加齢に伴い表皮では表皮厚の菲薄化等が、真皮では真皮乳頭部の弾性線維（oxytalan fiber）の消失等が認
15 められる。

皮ふの老化、例えばしわはとくに女性の美容上の大きな問題であるが、現在未だ満足のいく薬剤は少ない。

この発明者は、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質が皮ふの老化の予防、治療に有効であるという
20 新知見を得、この発明を完成した。

発明の開示

この発明は、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする皮ふの老化の予防、治療剤である。
25

この発明の皮ふの老化の予防、治療剤において有効成

分として使用できるヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質は、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質であればいずれでもよい。また、この発明で使用可能なヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質には、直接的な阻害のみならず、白血球の浸潤の抑制やエラスターゼ産生阻害により間接的に白血球エラスターゼ活性を阻害する物質も含まれる。すなわち、そのような活性を有する物質は種々知られているが、それら公知の物質を使用することができるのみならず、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有するものであれば、新規物質も使用可能である。これらのうち、特に好適な化合物を以下に例示する。

(1) WS7622A モノもしくはジ硫酸エステルおよびそれらの医薬として許容される塩類：それらのうち、WS7622A ジ硫酸エステルの二ナトリウム塩およびWS7622A ジ硫酸エステルの二カリウム塩はそれぞれ下記の物理化学的性質を有する公知物質である（特開平4-279600号公報）。

WS7622A ジ硫酸エステルの二ナトリウム塩（以下FR 134043と略す場合がある。）：

外観：無色の結晶

溶解性：可溶：水、メタノール

不溶：クロロホルム、n-ヘキサン

融点：257～263℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]^{23}_D + 37.5^\circ$ （C=1、メタノール）

分子式 : $C_{47}H_{61}N_9O_{19}S_2Na_2$

元素分析 :

計算値 : ($C_{47}H_{61}N_9O_{19}S_2Na_2 \cdot 6H_2O$ として) :

C 44.30, H 5.77, N 9.89, S 5.03,

5 Na 3.61 %

実測値 : C 44.98, H 5.90, N 10.06, S 5.00,

Na 3.98 %

分子量 : FAB-MS m/z 1188 ($M+Na$)⁺

薄層クロマトグラフィー :

10 表 1

固定相	展開溶媒	Rf値
シリカゲル	$CHCl_3-CH_3OH-H_2O$	0.11
(メルク Art 5715)	(65 : 25 : 4)	
	n-ブタノール-酢酸	0.29
	-水 (4 : 2 : 1)	

15

赤外吸収スペクトル :

ν^{KBr}_{max} 3360, 2960, 1735, 1660, 1640, 1530,

1500, 1380, 1250, 1200, 1060, 1030,

940, 890 cm^{-1}

20 1H 核磁気共鳴スペクトル :

(400MHz, D_2O) δ

7.50 (1H, s)

7.27 (1H, s)

7.33-7.24 (3H, m)

25 6.94 (1H, q, $J=7Hz$)

	6.85	(2H, br d, J=8Hz)
	5.53	(1H, m)
	5.37	(1H, m)
	4.80	(1H, br s)
5	4.63-4.57	(2H, m)
	4.53	(1H, m)
	4.06	(1H, m)
	3.99	(1H, d, J=10Hz)
	3.56	(1H, br d, J=14Hz)
10	3.46	(1H, m)
	2.97	(3H, s)
	2.97-2.88	(2H, m)
	2.72	(1H, m)
	2.59	(1H, m)
15	2.51-2.38	(2H, m)
	2.09-1.91	(4H, m)
	1.82-1.60	(3H, m)
	1.77	(3H, d, J=7Hz)
	1.50	(3H, d, J=6.5Hz)
20	1.40	(1H, m)
	1.11	(6H, d, J=7Hz)
	0.99	(3H, d, J=6.5Hz)
	0.97	(3H, d, J=6.5Hz)

¹³C 核磁気共鳴スペクトル :

25 (100MHz, D₂O) δ

	183.6	(s)
	177.9	(s)
	177.7	(s)
	174.8	(s)
5	173.8	(s)
	173.3	(s)
	172.4	(s)
	167.8	(s)
	161.5	(s)
10	145.5	(s)
	144.9	(s)
	139.6	(d)
	139.0	(s)
	137.0	(s)
15	136.0	(s)
	132.3	(d)X2
	131.0	(d)X2
	129.6	(d)
	127.4	(d)
20	125.9	(d)
	77.4	(d)
	75.1	(d)
	63.8	(d)
	62.7	(d)
25	59.1	(d)

	55.9	(d)
	54.9	(d)
	51.9	(d)
	41.9	(t)
5	37.2	(d)
	36.9	(t)
	34.1	(q)
	32.3	(d)
	31.9	(t)
10	31.8	(t)
	31.2	(t)
	27.5	(t)
	23.7	(t)
	21.7	(q)
15	21.4	(q)X2
	21.3	(q)
	21.1	(q)
	15.5	(q)

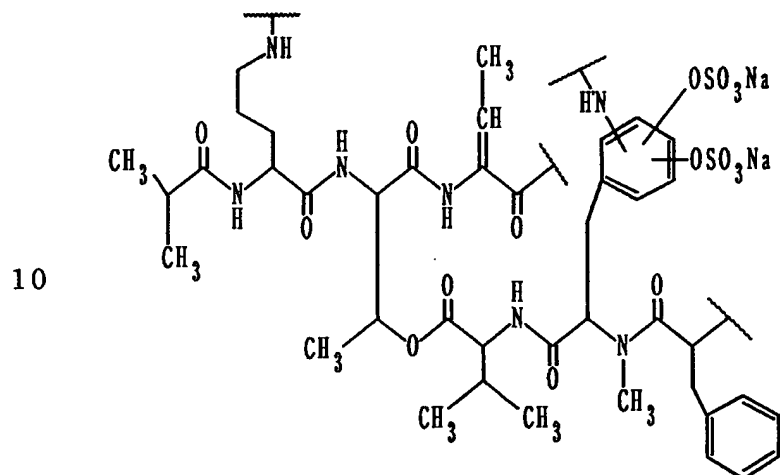
アミノ酸分析：

- 20 WS7622A シ硫酸エステルの二ナトリウム塩（1 mg）を
6 規定塩酸（1 ml）、110℃、20時間の条件で加水分解
し、減圧乾固して得た混合物を日立835型自動車アミノ
酸分析計により測定した。アミノ酸スタンダード標品と
して、和光純薬工業（株）のタイプ H（和光コード013
25 -08391）とタイプ B（016-08641）を使用した。

その結果、トレオニン、バリン、フェニルアラニン、
オルニチン、アンモニアと数種の未知ニンヒドリン陽性
成分が検出された。

WS7622A シ硫酸エステル和二ナトリウム塩の部分化学

5 構造式として、次のような式が提案される。



WS7622A シ硫酸エステル和二カリウム塩：

15 外観：無色無定形粉末

溶解性：可溶：水、メタノール

不溶：クロロホルム、n-ヘキサン

融点：230～237℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]^{25}_D +34^\circ$ (C=1、メタノール)

20 分子式： $C_{47}H_{61}N_9O_{19}S_2K_2$

元素分析：

計算値： $(C_{47}H_{61}N_9O_{19}S_2K_2 \cdot 6H_2O \text{として})$ ：

C 43.21, H 5.63, N 9.65, S 4.91,

K 5.99 %

25 実測値：C 43.96, H 5.44, N 9.97, S 5.09,

K 4.49 %

分子量 : FAB-MS m/z 1236 (M+K)⁺

薄層クロマトグラフィー :

表 2

5	固定相	展開溶媒	Rf 値
	シリカゲル	CHCl ₃ -CH ₃ OH-H ₂ O	0.13

(メルク Art 5715)

赤外吸収スペクトル :

ν_{max} 3360, 2960, 1735, 1660, 1640, 1530,
 10
 1500, 1405, 1380, 1250, 1200, 1050,
 1030, 940, 890 cm⁻¹

¹H 核磁気共鳴スペクトル :(400MHz, D₂O) δ

15	7.52	(1H, s)
	7.28	(1H, s)
	7.34-7.25	(3H, m)
	6.96	(1H, q, J=7Hz)
	6.87	(2H, br d, J=8Hz)
20	5.56	(1H, m)
	5.40	(1H, m)
	4.84	(1H, br s)
	4.70-4.55	(3H, m)
	4.10	(1H, m)
25	4.03	(1H, m)
	3.60	(1H, br d, J=14Hz)

	3.50	(1H, m)
	3.00	(3H, s)
	3.00-2.85	(2H, m)
	2.76	(1H, m)
5	2.62	(1H, m)
	2.55-2.40	(2H, m)
	2.12-1.95	(4H, m)
	1.90-1.65	(3H, m)
	1.79	(3H, d, J=7Hz)
10	1.53	(3H, d, J=6.5Hz)
	1.45	(1H, m)
	1.14	(6H, d, J=7Hz)
	1.02	(3H, d, J=6.5Hz)
	1.00	(3H, d, J=6.5Hz)

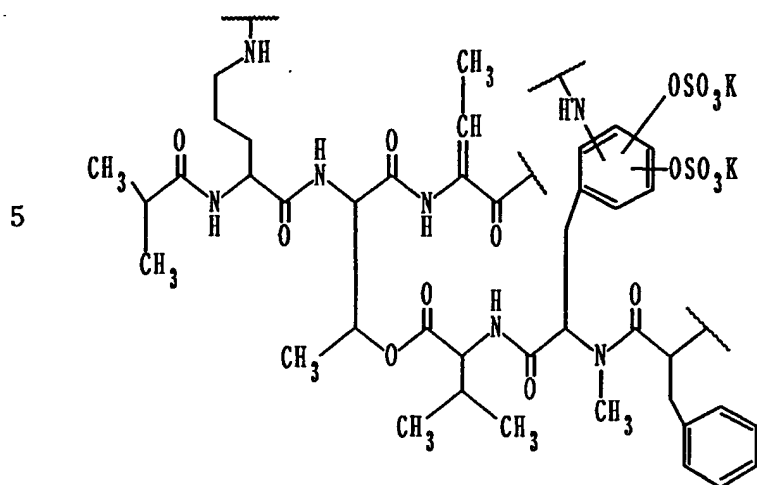
15 アミノ酸分析：

WS7622A シ硫酸エステルの二カリウム塩 (1 mg) を 6 規定塩酸 (1 ml)、110℃、20時間の条件で加水分解し、減圧乾固して得た混合物を日立835型自動アミノ酸分析計により測定した。アミノ酸スタンダード標品として、和光純薬工業(株)のタイプH(和光コード番号013-08391)とタイプB(016-08641)を使用した。

その結果、トレオニン、バリン、フェニルアラニン、オルニチン、アンモニアと数種の未知のニンヒドリン陽性成分が検出された。

25 WS7622A シ硫酸エステルの二カリウム塩の部分化学構

造式として、次のような式が提案される。



- 10 WS7622A モノもしくはジ硫酸エステルの医薬として許容される塩としては、例えばアルカリ金属塩（たとえば、ナトリウム塩、カリウム塩など）、アルカリ土類金属塩（たとえばカルシウム塩など）、アンモニウム塩、エタノールアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、ピリジン塩などの、無機塩基あるいは有機塩基とのモノもしくはジ塩を挙げることができる。
- 15

上記 WS7622A モノもしくはジ硫酸エステルの合成のための出発物質である WS7622A 物質もヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有し、しわの予防、治療剤として使用

20

できる。該物質は次のような物理化学的性質を有する物質として知られている（特開平 3 - 218387号公報、特開平 4 - 279600号公報）。

WS7622A 物質の物理化学的性質：

外観：無色プリズム晶

25 物質の性質：酸性

呈色反応：陽性：硫酸セリウム反応、沃素蒸気反応、

塩化第二鉄反応

陰性：ニンヒドリン反応、モーリッシュ反

応、ドラーゲンドルフ反応

5 溶解性：可溶：メタノール、エタノール、n-ブタノール

微溶：クロロホルム、アセトン、酢酸エチル

不溶：水、n-ヘキサン

薄層クロマトグラフィー（TLC）：

10 クロロホルム-メタノール（5：1、v/v）

R_f値 0.51

アセトン-メタノール（10：1） R_f値 0.62

（キーゼルゲル60F₂₅₄シリカゲルプレート、メルク社）

15 融点：250～252℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]^{23}_D +36^\circ$ （C=1、メタノール）

UVスペクトル： $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 287 nm（ $\epsilon=3600$ ）

$\lambda_{\text{MeOH-HCl}}^{\text{max}}$ 287 nm

$\lambda_{\text{MeOH-NaOH}}^{\text{max}}$ 298 nm

20 分子式： $\text{C}_{47}\text{H}_{63}\text{N}_9\text{O}_{13}$

元素分析：

計算値： $(\text{C}_{47}\text{H}_{63}\text{N}_9\text{O}_{13} \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ ：

C 56.56, H 6.77, N 12.63 %

実測値：C 56.65, H 6.62, N 12.27 %

25 分子量：FAB-MS m/z 984 (M+Na)⁺

赤外吸収スペクトル：

ν_{max} 3400, 3300, 3060, 2980, 2940, 1735,
 1710, 1690, 1670, 1660, 1640, 1540,
 1520, 1470, 1380, 1330, 1300, 1260,
 5 1220, 1200, 1160, 1130, 1090, 1000,
 980, 940, 920 cm^{-1}

 ^1H 核磁気共鳴スペクトル：(400MHz, CD_3OD) δ

	7.22-7.09	(3H, m)
10	6.88-6.77	(3H, m)
	6.74	(1H, s)
	6.46	(1H, s)
	5.46	(1H, m)
	5.18	(1H, s)
15	4.85	(1H, s)
	4.77	(1H, m)
	4.65	(1H, m)
	4.50	(1H, m)
	3.96	(1H, m)
20	3.91	(1H, d, $J=9\text{Hz}$)
	3.60-3.47	(2H, m)
	3.03	(1H, m)
	2.90	(3H, s)
	2.86	(1H, m)
25	2.59-2.49	(2H, m)

	2.39	(1H, m)
	2.29-2.16	(2H, m)
	2.00	(1H, m)
	1.84	(1H, m)
5	1.74	(3H, d, J=6Hz)
	1.72-1.53	(4H, m)
	1.44	(3H, d, J=6Hz)
	1.12	(1H, m)
	1.10	(6H, d, J=6Hz)
10	0.99	(3H, d, J=6Hz)
	0.94	(3H, d, J=6Hz)

¹³C 核磁気共鳴スペクトル :(100MHz, CD₃OD) δ

	179.7	(s)
15	176.3	(s)
	174.7	(s)
	173.3	(s)
	172.4	(s)
	171.4	(s)
20	170.3	(s)
	165.8	(s)
	160.2	(s)
	145.7	(s)
	145.6	(s)
25	137.5	(s)

	134.0	(d)
	131.4	(s)
	130.6	(d)X2
	129.8	(s)
5	129.1	(d)X2
	129.1	(s)
	127.6	(d)
	119.1	(d)
	118.0	(d)
10	76.0	(d)
	73.4	(d)
	63.1	(d)
	61.4	(d)
	57.1	(d)
15	53.6	(d)
	52.7	(d)
	50.5	(d)
	39.9	(t)
	36.1	(t)
20	35.8	(d)
	31.8	(q)
	31.0	(t)
	30.8	(d)
	29.9	(t)
25	29.7	(t)

	25.2	(t)
	22.3	(t)
	20.2	(q)
	20.0	(q)X2
5	19.7	(q)
	19.5	(q)
	13.3	(q)

アミノ酸分析：

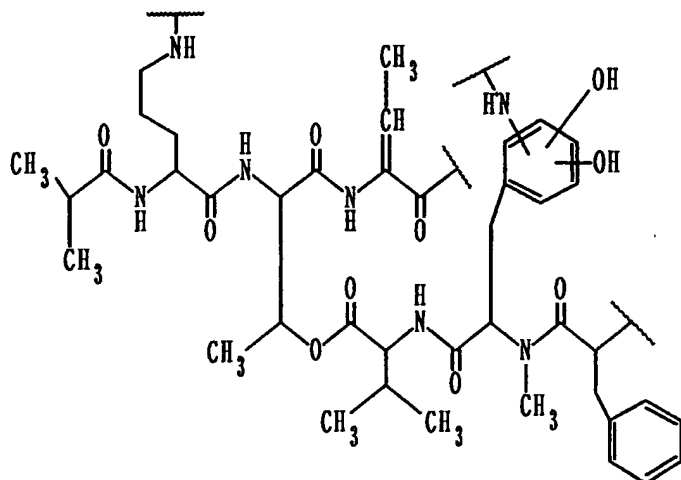
WS7622A (1 mg) を 6 規定塩酸 (1 ml)、110℃、20
10 時間の条件で加水分解し、減圧乾固して得た混合物を日立 835 型自動アミノ酸分析計により測定した。アミノ酸スタンダード標品として、和光純薬工業 (株) のタイプ H (和光コード番号 013-08391) とタイプ B (016-08641) を使用した。

15 その結果、トレオニン、バリン、フェニルアラニン、オルニチン、アンモニアと数種の未知ニンヒドリン陽性成分が検出された。

WS7622A の部分化学構造式として、次のような式が提案される：

20

25



WS7622A 物質の塩としては、アルカリ金属塩（たとえば、ナトリウム塩、カリウム塩など）、アルカリ土類金属塩（たとえば、カルシウム塩など）、アンモニウム塩、エタノールアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩などの、無機塩基または有機塩基との塩が挙げられる。

同様にヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する WS7622B、C および D 物質、ならびにそれらの誘導体（特開平 3 - 218387 号公報）もしわの予防、治療剤として使用できる。

上記 WS7622A 物質（WS7622B、C および D 物質も同様）は例えばストレプトミセス・レシストミシフィクス（*Streptomyces resistomycificus*）No.7622 株の培養によって製造することができ、該菌株はブダペスト条約に基づく国際寄託機関である工業技術院生命工学工業技術研究所に、寄託番号 FERM BP-2306 の下に寄託されている。

(2) 式：



- 5 [式中、 R^1 はカルボキシ、エステル化されたカルボキシおよびジ-低級アルキルカルバモイルから選ばれた1または2の置換基を有する低級アルキル基；フェニル部分にハロゲン、アミノまたはニトロ、アルキル部分にカルボキシまたはエステル化されたカルボキシを有していてもよいフェニル（低級）アルキル基；ハロフェニル基；
- 10 モルホリノ基；またはモルホリノ（低級）アルキル基を、 R^2 および R^3 はそれぞれ低級アルキル基を、 X は—または—NH—を、

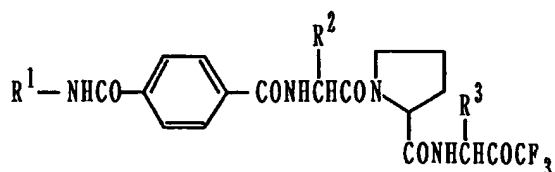
15



をそれぞれ意味する] で示されるトリフルオロメチルケトン誘導体およびその医薬として許容される塩。

(3) 式：

20



- (式中、 $R^1 \sim R^3$ は上記(2))の化合物と同じ意味)
- 25 で示されるトリフルオロメチルケトン誘導体およびその

医薬として許容される塩。

(4) 3 (RS) - [[4 - (カルボキシメチルアミノカルボニル) フェニルカルボニル] - L - バリル - L - プロリル] アミノ - 1, 1, 1 - トリフルオロ - 4 - メチル - 2 - オキソペンタンまたはそのナトリウム塩 (以下、このナトリウム塩をFK706と略す場合がある)

上記(2)~(4)に記載の化合物は、例えば特開平4-297446号公報に記載されている公知化合物である。また、(2)~(3)の化合物の医薬として許容される塩としては、アルカリ金属塩 (たとえばナトリウム塩、カリウム塩など)、アルカリ土類金属塩 (たとえばカルシウム塩など)、アンモニウム塩、エタノールアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩などの無機または有機塩基との塩およびメタンスルホン酸塩、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩などの有機または無機酸付加塩を挙げることができる。

前記定義の好適な例を以下に詳細に説明する。「低級」とは、特記ない限り、炭素原子数1ないし6を意味する。好適な「ハロゲン」の例としては弗素、塩素、臭素および沃素が挙げられる。好適な「低級アルキル基」としては、炭素原子1ないし6個を有する直鎖および分枝アルカンの残基、たとえばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、t-ブチル、ペンチル、ネオペンチル、ヘキシルなど、好ましくは炭素原子1ないし4個を有するものを挙げることができる。好

適な「エステル化されたカルボキシ基」としては、アル
キルエステル、すなわち、アルコキシカルボニル、たと
えば低級アルコキシカルボニル（たとえばメトキシカル
ボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、
5 ブトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニルなど）
およびフェニル（低級）アルキルエステル、すなわち、
フェニル（低級）アルコキシカルボニル、たとえばベン
ジロキシカルボニル、ならびにベンゾイル（低級）ア
ルキルエステル、すなわち、ベンゾイル（低級）アルコ
10 キシカルボニル、たとえばベンゾイルメトキシカルボニ
ルなどを挙げることができる。

好適な「低級アルキレン基」としては、メチレン、エ
チレン、プロピレン、イソプロピレンなどを挙げるこ
とができる。好適な「ジ低級アルキルカルバモイル基」と
15 しては、N,N-ジメチルカルバモイル、N,N-ジエチ
ルカルバモイルなどを挙げるすることができる。

(5) 下記の物理化学的性質を有するFR901451物質および
その医薬として許容される塩：

外観：白色粉末

20 呈色反応：陽性：硫酸セリウム、ヨウ素蒸気、エール
リッヒ、ニンヒドリン

陰性：モーリッシュ

溶解性：可溶：水、メタノール、ジメチルスルホキシド

難溶：アセトン

25 不溶：酢酸エチル

融点：243～245℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]^{25}_D -15^\circ$ (C=0.65, H₂O)

紫外線吸収スペクトル： λ^{MeOH}_{max} nm(ϵ) 275 (4300),

281 (4500), 290 (3900)

5 分子式：C₆₀H₇N₁₃O₁₈

元素分析：C₆₀H₇N₁₃O₁₈·10H₂Oとしての

計算値：C 49.68, H 6.88, N 12.55

実測値：C 49.95, H 6.28, N 12.42

分子量：FAB-MS m/z 1270 (M+H)⁺

10 薄層クロマトグラフィー：

表 3

	固定相	展開溶媒	Rf値
	シリカゲル (メルク)	CHCl ₃ : MeOH : NH ₄ OH (15 : 11 : 5)	0.60
15	RP-18 (メルク)	70% 含水メタノール	0.32

FT赤外線吸収スペクトル：

ν^{KBr}_{max} 3390, 3070, 2970, 2880, 1740, 1660,

1530, 1450, 1410, 1380, 1350, 1250,

1190, 1110, 1080, 1010, 750, 700, 670,

20 660, 620, 600 cm⁻¹

¹H核磁気共鳴スペクトル：

(400MHz, D₂O) δ

7.70 (1H, d, J=7Hz)

7.52 (1H, d, J=7.5Hz)

25 7.44-7.23 (7H, m)

	7.22	(1H, s)
	5.59	(1H, q, J=7Hz)
	4.94	(1H, t, J=4.5Hz)
	4.85-4.74	(3H, m)
5	4.58	(1H, dd, J=6Hz, 10Hz)
	4.45-4.35	(3H, m)
	4.30	(1H, dd, J=4Hz, 7Hz)
	4.07	(1H, m)
	3.99	(1H, dd, J=10Hz, 4.5Hz)
10	3.66-3.50	(3H, m)
	3.44-3.25	(4H, m)
	3.16-2.93	(4H, m)
	2.87	(1H, d, J=18Hz)
	2.80-2.68	(2H, m)
15	2.56-2.48	(2H, m)
	2.08	(1H, dd, J=16Hz, 4Hz)
	1.87-1.53	(9H, m)
	1.43	(3H, d, J=7Hz)
	1.30	(3H, d, J=6.5Hz)
20	1.45-1.17	(4H, m)
	0.95	(3H, d, J=6Hz)
	0.84	(3H, d, J=6Hz)

¹³C 核磁気共鳴スペクトル :(100MHz.D₂O) δ

25	177.2 (s)	130.0 (d)X2	56.0 (d)	31.4 (t)
----	-----------	-------------	----------	----------

	176.5 (s)	129.8 (d)X2	54.1 (d)	28.8 (t)
	174.6 (s)	128.5 (d)	53.8 (d)	26.6 (t)
	174.2 (s)	127.8 (s)	53.2 (d)	25.1 (d)
	174.0 (s)	125.5 (d)	53.1 (d)	23.2 (q)
5	173.2 (s)	123.2 (d)	52.9 (d)	23.2 (t)
	173.0 (s)	120.9 (d)	52.8 (d)	23.1 (t)
	172.8 (s)	118.7 (d)	49.5 (d)	20.8 (q)
	172.6 (s)	113.1 (d)	48.6 (t)	19.4 (q)
	172.5 (s)	108.8 (s)	40.1 (t)	18.3 (q)
10	172.1 (s)	73.3 (d)	39.6 (t)	
	171.7 (s)	69.7 (d)	39.4 (t)	
	171.4 (s)	64.3 (t)	38.9 (t)	
	170.3 (s)	62.1 (d)	35.3 (t)	
	137.2 (s)	60.9 (d)	34.8 (t)	
15	136.0 (s)	57.1 (d)	31.7 (t)	

上記 FR901451 物質はフレキシバクター (Flexibacter) 属の FR901451 物質生産菌が生産する物質として知られている (例えば、国際公開番号: W093/02203 号公報)。また該生産菌の 1 株フレキシバクター・spNo.758 株はブダペスト条約に基づく国際寄託機関である工業技術院生命工学工業技術研究所に、寄託番号 FERMBP-3420 として寄託されている。

また、上記 FR901451 物質の医薬として許容される塩としては、前記 (2)~(3) に記載の化合物の医薬として許容される塩として例示した塩がそのまま例示される。

上記のほか、エラスターゼ阻害活性を有する物質の例として、 α 1-アンチトリプシン、SLP1 (Secretory Leukocyte Protease Inhibitor) (American Review of Respiratory Disease Vol.147、1993、P 442-446)、
5 ウリナスタチン、コルヒチン、エリスロマイシン、クラリスロマイシン、ICI200、880、ONO-5046 (American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine Vol.153、P 391-397)、抗エラスターゼ抗体等が挙げられる。

10 この発明においては、皮ふの老化全般の予防、治療に対してヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質が有効であり、適用可能である。具体的には、皮ふの潤い、つや、なめらかさ、はり等の減少、さらには、しわの増加の予防、治療、皮ふのたるみの予防、治療に適用可能である。これらの皮ふの老化現象は皮ふを構成している器官・組織の形態および機能的変化に基づくものと考えられ、具体的には、加齢に伴い表皮では表皮厚の菲薄化等が、真皮では真皮乳頭部の弾性線維 (oxytalan fiber) の消失等が認められる。

20 これら皮ふの老化のうち、とくにしわの消失、減少、あるいはしわの増加の予防、治療、皮ふのテクスチャー (きめ、手触り) の改善、皮ふ色調 (くすみ) の改善等にヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質の効果が顕著である。

25 また、真皮乳頭部の弾性線維の新生、表皮直下の真皮

部位での微細な膠原線維の新生、表皮厚の増加等において顕著な効果がある。

このほか、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質は、強皮症、象皮病、はんこん、ステロイドによる
5 表皮のひはく化、ケロイド、じょくそう、創傷、難治性
かいよう、乾癬、しみ、そばかす、老人斑、はだあれ、
はたけ等の皮ふ疾患にも有効である。

次のこの発明の試験例を示す。

実験目的：好中球エラスターゼ阻害剤の「皮ふの老化」
10 に対する治療効果をヘアレス犬を用いて評価
する。

使用動物：メキシカンヘアレスドッグとビーグル犬の交
配によって作出された実験用ヘアレス犬の成
犬（老齢犬）2頭を使用。
15 若齢犬には認められない、加齢に伴う微細な
「しわ」の形成が体表面に見られる老齢犬を
対象とした。

No.8807（10歳、雄）

No.8808（10歳、雌）

20 被検薬剤：1) FK706・0.2%
2) FK706・0.02%
3) FR134043・0.2%
4) FR134043・0.02%
5) ポリエチレングリコール（PEG）（溶媒、
25 コントロール）（1～4の薬剤の溶媒はPEG）

薬剤投与：各犬の背部（5 × 5 cm）に各薬剤を1個所ずつ（計5個所）塗布

塗布量は約4 μL/cm²とし、一日一回（土、日、祝日は除く）3ヶ月塗布。

5 評価項目：1) 皮膚性状：肉眼観察及びビデオマクロスコープによる観察

2) 組織学的検査：H-E（ヘマトキシリン-エオジン）染色（一般的染色）、ワンギーソン染色（コラーゲン線維の染色）、
10 ワイゲルト染色（エラスチン線維の染色）による生検サンプルを用いた組織学的変化の観察

3) 表皮の厚さ：H-E染色組織標本を用いた表皮の厚さ（角質層を除く）の変化を
15 検討（特に皮膚症状の改善が顕著であったFK706 0.2%塗布部位のみ検討）

試験結果：

1) 皮膚性状（しわの改善、緩和）

（肉眼観察）

20 No.8807：FK706・0.2%>FK706・0.02%>FR134043・0.2%=FR134043・0.02%の順で、しわの消失、減少が認められた。また、この所見はtexture（きめ、手触り）の改善を伴い、さらに皮膚の美白化
25 （白色・淡紅色化する等）も伴って

いた。

No.8808 : FK706・0.2%>FK706・0.02%>FR134043・

0.2%=FR134043・0.02%の順であっ

た。

5 なお、いずれの犬においても副作用は認められ
なかつた。

(ビデオマクロスコープによる観察)

肉眼所見とほぼ同様の結果が認められた。

No.8807 : FK706・0.2%>FK706・0.02%>FR134043・

10 0.2%>FR134043・0.02%の順に効果が
あつた。

No.8808 : FK706・0.2%=FK706・0.02%>FR134043・

0.2%=FR134043・0.02%の順であつ
た。

15 2) 組織学的所見

ワンギーソン染色 : FK706・0.2%塗布例に、表皮と
真皮の境界部に層状の薄いコラーゲン線維の新
生像が観察された(8807の犬)。

20 ワイゲルト染色 : FK706・0.2%に表皮と真皮の境界
部に微細なエラスチン線維(加齢と共に消失す
ると言われる oxytalan fiberと考えられる)の
増殖像が認められた(8807の犬)。

3) 表皮厚の検討

25 有意な表皮厚の増加が認められた(8807, 8808の
犬、共に $p < 0.05$)。

8807 : $17.0 \pm 1.9 \mu\text{m} \rightarrow 26.8 \pm 5.9 \mu\text{m}$ (平均値 \pm SD)

8808 : $24.6 \pm 3.6 \mu\text{m} \rightarrow 42.0 \pm 9.0 \mu\text{m}$

この発明の皮ふの老化の予防、治療剤は、通常は外用
剤（例えば、ローション剤、軟膏剤、貼付剤、リニメン
5 ト剤、エアゾール剤、懸濁剤、乳剤等）、外用の散剤（
例えば、酵素洗顔剤）として使用されるが、このほか散
剤、細顆粒剤、顆粒剤、錠剤、糖衣錠、注射剤、吸入
剤、マイクロカプセル剤、カプセル剤、坐剤、液剤、シ
ロップなどの慣用の医薬製剤の形で使用可能であり、す
10 らには洗顔剤、メイク落とし（浸潤剤）、入浴剤として
も使用可能である。必要な場合、希釈剤または崩解剤（
たとえば蔗糖、乳糖、澱粉、結晶性セルロース、低置換
ヒドロキシプロピルセルロース、合成ケイ酸アルミニウ
ムなど）、結合剤（たとえばセルロース、メチルセルロ
15 ース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロ
ピルメチルセルロース、ポリプロピルピロリドン、ポリ
ビニルピロリドン、ゼラチン、アラビアゴム、ポリエチ
レングリコールなど）、着色剤、甘味剤、滑沢剤（たと
えばステアリン酸マグネシウムなど）その他を分散配合
20 することができる。

この発明の皮ふの老化の予防、治療剤の使用量は、使
用化合物、症状等にもよるが、一般に、外用剤において
はヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質または
その医薬として許容される塩として0.001～20％程度、
25 好ましくは0.01～10％程度の範囲で使用するのが適当で

ある。

5

10

15

20

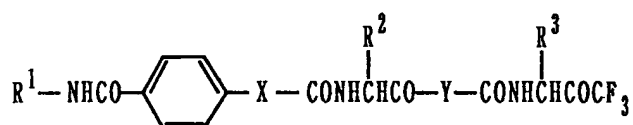
25

請求の範囲

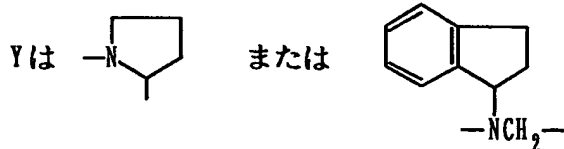
1. ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする皮膚の老化の予防、治療剤。

2. WS7622A モノもしくはジ硫酸エステルまたはその医薬として許容される塩を有効成分とするしわの予防、治療剤。

3. 式



[式中、 R^1 はカルボキシ、エステル化されたカルボキシおよびジ-低級アルキルカルバモイルから選ばれた1または2の置換基を有する低級アルキル基；フェニル部分にハロゲン、アミノまたはニトロ、アルキル部分にカルボキシまたはエステル化されたカルボキシを有していてもよいフェニル（低級）アルキル基；ハロフェニル基；モルホリノ基；またはモルホリノ（低級）アルキル基を、 R^2 および R^3 はそれぞれ低級アルキル基を、 X は-または-NH-を、

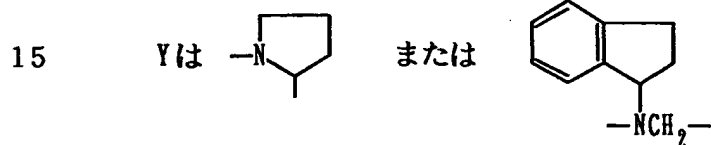


をそれぞれ意味する] で示されるトリフルオロメチルケトン誘導体またはその医薬として許容される塩を有効成分とする皮膚の老化の予防、治療剤。

4. 式



- 5 [式中、 R^1 はカルボキシ、エステル化されたカルボキシおよびジ-低級アルキルカルバモイルから選ばれた 1 または 2 の置換基を有する低級アルキル基；フェニル部分にハロゲン、アミノまたはニトロ、アルキル部分にカルボキシまたはエステル化されたカルボキシを有していてもよいフェニル（低級）アルキル基；ハロフェニル基；モルホリノ基；またはモルホリノ（低級）アルキル基を、 R^2 および R^3 はそれぞれ低級アルキル基を、 X は - または -NH- を、
- 10



をそれぞれ意味する] で示されるトリフルオロメチルケトン誘導体またはその医薬として許容される塩を有効成分とするしわの予防、治療剤。

- 20 5. ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質が FR134043 である請求の範囲 1 の皮の老化の予防、治療剤。

6. ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質が FR134043 である請求の範囲 2 のしわの予防、治療剤。

7. ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質が FK706 である請求の範囲 1 の皮ふの老化の予防、治療剤。
- 25

8. ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質がFK706である請求の範囲4のしわの予防、治療剤。

9. ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を皮ふの老化の予防、治療のために患者に投与することを特徴とする皮ふの老化の予防、治療法。

10. 皮ふの老化の予防、治療のための薬剤を製造するためのヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質の使用。

10

15

20

25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/00761

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ A61K45/00, 38/03 // C07K14/36, 5/093, C12P1/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K45/00, 38/03 // C07K14/36, 5/093, C12P1/06

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP, 6-184192, A (Adir et Co.), 5 July, 1994 (05. 07. 94), Par. Nos. [0011] to [0015] & FR, 2694295, A & EP, 585155, A & US, 5565429, A	1, 10 2-8
Y	JP, 4-279600, A (Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.), 5 October, 1992 (05. 10. 92), Reference as a whole & EP, 465895, A & US, 5292510, A & US, 5364624, A	2, 5, 6
Y	JP, 4-297446, A (Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.), 21 October, 1992 (21. 10. 92), Reference as a whole & EP, 494071, A & US, 5296591, A	3, 4, 7, 8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
21 April, 1999 (21. 04. 99)

Date of mailing of the international search report
11 May, 1999 (11. 05. 99)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/00761

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 9

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 9 pertains to methods for treatment of the human body by therapy and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP99/00761

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁸ A61K45/00, 38/03//C07K14/36, 5/093, C12P1/06

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁸ A61K45/00, 38/03//C07K14/36, 5/093, C12P1/06

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	JP, 6-184192, A (アディール エ コンパニー) 05. 7月. 1994 (05. 07. 94) 【0011】～ 【0015】 &FR, 2694295, A&EP, 585155, A &US, 5565429, A	1, 10 2-8
Y	JP, 4-279600, A (藤沢薬品工業株式会社) 05. 10月. 1992 (05. 10. 92) 文献全体 &EP, 465895, A&US, 5292510, A &US, 5364624, A	2, 5, 6

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

21. 04. 99

国際調査報告の発送日

11.05.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

瀬下 浩一



4C 9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3453

C (続き). 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 4-297446, A (藤沢薬品工業株式会社) 21. 10月. 1992 (21. 10. 92) 文献全体 & EP, 494071, A&US, 5296591, A	3, 4, 7, 8

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 9 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求の範囲 9 は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査期間が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001 年 4 月 19 日 (19.04.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/26685 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 45/00, A61P 17/02 (74) 代理人: 弁理士 田伏英治 (TABUSHI, Eiji); 〒532-8514 大阪府大阪市淀川区加島2丁目1番6号 藤沢薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/06873
- (22) 国際出願日: 2000 年 10 月 2 日 (02.10.2000) (81) 指定国 (国内): AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願平 11/289247
1999 年 10 月 12 日 (12.10.1999) JP
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 藤沢薬品工業株式会社 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒541-8514 大阪府大阪市中央区道修町3丁目4番7号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高倉昭治 (TAKAKURA, Shoji) [JP/JP]. 箕浦恭子 (MINOURA, Kyoko) [JP/JP]; 〒541-8514 大阪府大阪市中央区道修町3丁目4番7号 藤沢薬品工業株式会社内 Osaka (JP).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: REMEDIES FOR INTRACTABLE WOUND

(54) 発明の名称: 難治性創傷の治療剤

(57) Abstract: These remedies contain as the active ingredient a substance having a human leukocyte elastase inhibitory activity.

(57) 要約:

難治性創傷の治療剤を提供する、

ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする

難治性創傷の治療剤。

WO 01/26685 A1

明細書

難治性創傷の治療剤

技術分野

- 5 この発明はヒト白血球エステラーゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする難治性創傷の治療剤に関するものである。

この発明者は、ヒト白血球エステラーゼ阻害活性を有する物質が難治性創傷の治療に有効であるという新知見を得、この発明を完成した。

10

背景技術

産業上の利用の可能性

- この発明は、ヒト白血球エステラーゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする難治性創傷の治療剤である。
- 15

発明の開示

- この発明の難治性創傷の治療剤において有効成分として使用できるヒト白血球エステラーゼ阻害活性を有する物質は、ヒト白血球エステラーゼ阻害活性を有する物質であればいずれでもよい。また、
- 20 この発明で使用可能なヒト白血球エステラーゼ阻害活性を有する物質には、直接的な阻害のみならず、白血球の浸潤の抑制やエステラーゼ産生阻害により間接的に白血球エステラーゼ活性を阻害する物質も含まれる。すなわち、そのような活性を有する物質は種々知られているが、それら公知の物質を使用することができるのみならず、ヒト白血球エステラーゼ阻害活性を有するものであれば、新規物質も使用可能である。これらのうち、特に好適な化合物を以下に例示する。
- 25

(1) WS 7 6 2 2 Aモノもしくはジ硫酸エステルおよびそれらの医薬として許容される塩類：それらのうち、WS 7 6 2 2 Aジ硫酸エステルの二ナトリウム塩およびWS 7 6 2 2 Aジ硫酸エステルの二カリウム塩はそれぞれ下記の物理化学的性質を有する公知物質である（特開平4-279600号公報）。

WS 7 6 2 2 Aジ硫酸エステルの二ナトリウム塩：

外観：無色の結晶

溶解性：可溶：水、メタノール

不溶：クロロホルム、n-ヘキサン

10 融点：257～263℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]^{23}_D +37.5^\circ$ (C=1、メタノール)

分子式： $C_{47}H_{61}N_9O_{19}S_2Na_2$

元素分析：

計算値： $(C_{47}H_{61}N_9O_{19}S_2Na_2 \cdot 6H_2O \text{として})$ ：

15 C 44.30, H 5.77, N 9.89, S 5.03, Na 3.61 %

実測値：C 44.98, H 5.90, N 10.06, S 5.00, Na 3.98 %

分子量：FAB-MS m/z 1188 (M+Na)⁺

薄層クロマトグラフィー：

固定相	展開溶媒	Rf値
シリカゲル (メルク Art 5715)	$CHCl_3-CH_3OH-H_2O$ (65:25:4)	0.11
	n-ブタノール-酢酸-水 (4:2:1)	0.29

20 赤外吸収スペクトル：

ν^{KBr} 3360, 2960, 1735, 1660, 1640, 1530, 1500, 1380, 1250, 1200, 1060, 1030, 940, 890 cm^{-1}

¹H核磁気共鳴スペクトル：

(400MHz, D₂O) δ

	7.50	(1H, s)
	7.27	(1H, s)
	7.33-7.24	(3H, m)
	6.94	(1H, q, J=7Hz)
5	6.85	(2H, br d, J=8Hz)
	5.53	(1H, m)
	5.37	(1H, m)
	4.80	(1H, br s)
	4.63-4.57	(2H, m)
10	4.53	(1H, m)
	4.06	(1H, m)
	3.99	(1H, d, J=10Hz)
	3.56	(1H, br d, J=14Hz)
	3.46	(1H, m)
15	2.97	(3H, s)
	2.97-2.88	(2H, m)
	2.72	(1H, m)
	2.59	(1H, m)
	2.51-2.38	(2H, m)
20	2.09-1.91	(4H, m)
	1.82-1.60	(3H, m)
	1.77	(3H, d, J=7Hz)
	1.50	(3H, d, J=6.5Hz)
	1.40	(1H, m)
25	1.11	(6H, d, J=7Hz)
	0.99	(3H, d, J=6.5Hz)
	0.97	(3H, d, J=6.5Hz)

^{13}C 核磁気共鳴スペクトル:(100MHz, D_2O) δ

	183.6	(s)
	177.9	(s)
5	177.7	(s)
	174.8	(s)
	173.8	(s)
	173.3	(s)
	172.4	(s)
10	167.8	(s)
	161.5	(s)
	145.5	(s)
	144.9	(s)
	139.6	(d)
15	139.0	(s)
	137.0	(s)
	136.0	(s)
	132.3	(d) $\times 2$
	131.0	(d) $\times 2$
20	129.6	(d)
	127.4	(d)
	125.9	(d)
	77.4	(d)
	75.1	(d)
25	63.8	(d)
	62.7	(d)
	59.1	(d)

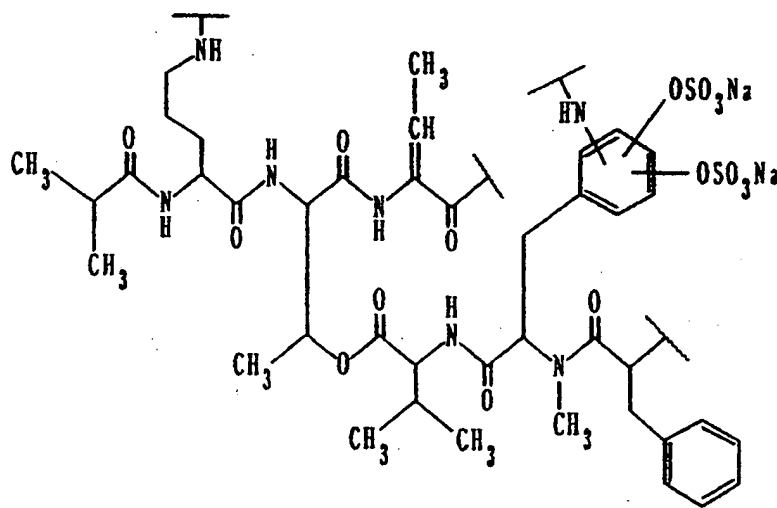
	55.9	(d)
	54.9	(d)
	51.9	(d)
	41.9	(t)
5	37.2	(d)
	36.9	(t)
	34.1	(q)
	32.3	(d)
	31.9	(t)
10	31.8	(t)
	31.2	(t)
	27.5	(t)
	23.7	(t)
	21.7	(q)
15	21.4	(q) × 2
	21.3	(q)
	21.1	(q)
	15.5	(q)

アミノ酸分析：

- 20 W S 7 6 2 2 A ジ硫酸エステルの二ナトリウム塩 (1 m g) を 6
規定塩酸 (1 m l) 、 1 1 0 ° C 、 2 0 時間の条件で加水分解し、減
圧乾固して得た混合物を日立 8 3 5 型自動車アミノ酸分析計により
測定した。アミノ酸スタンダード標品として、和光純薬工業 (株)
のタイプ H (和光コード 0 1 3 - 0 8 3 9 1) とタイプ B (0 1 6
25 - 0 8 6 4 1) を使用した。

その結果、トレオニン、バリン、フェニルアラニン、オルニチン、アンモニアと数種の未知ニンヒドリン陽性成分が検出された。

WS 7 6 2 2 A ジ硫酸エステルの変性ナトリウム塩の部分化学構造式として、次のような式が提案される。



WS 7 6 2 2 A ジ硫酸エステルの変性カリウム塩：

5 外観：無色無定形粉末

溶解性：可溶：水、メタノール

不溶：クロロホルム、n-ヘキサン

融点：230～237℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]^{23}_D +34^\circ$ (C=1、メタノール)

10 分子式： $C_{17}H_{21}N_9O_{19}S_2K_2$

元素分析：

計算値： $(C_{17}H_{21}N_9O_{19}S_2K_2 \cdot 6H_2O)$ として：

C 43.21, H 5.63, N 9.65, S 4.91, K 5.99 %

実測値：C 43.96, H 5.44, N 9.97, S 5.09, K 4.49 %

15 分子量：FAB-MS m/z 1236 (M+K)⁺

薄層クロマトグラフィー：

固定相	展開溶媒	Rf値
シリカゲル (メルク Art 5715)	$CHCl_3$ - CH_3OH - H_2O (65:25:4)	0.13

赤外吸収スペクトル：

ν^{KBr} 3360, 2960, 1735, 1660, 1640, 1530, 1500, 1405, 1380, 1250, 1200, 1050, 1030, 940, 890 cm^{-1}

1H 核磁気共鳴スペクトル:

(400MHz, D_2O) δ

5	7.52	(1H, s)
	7.28	(1H, s)
	7.34-7.25	(3H, m)
	6.96	(1H, q, J=7Hz)
	6.87	(2H, br d, J=8Hz)
10	5.56	(1H, m)
	5.40	(1H, m)
	4.84	(1H, br s)
	4.70-4.55	(3H, m)
	4.10	(1H, m)
15	4.03	(1H, m)
	3.60	(1H, br d, J=14Hz)
	3.50	(1H, m)
	3.00	(3H, s)
	3.00-2.85	(2H, m)
20	2.76	(1H, m)
	2.62	(1H, m)
	2.55-2.40	(2H, m)
	2.12-1.95	(4H, m)
	1.90-1.65	(3H, m)
25	1.79	(3H, d, J=7Hz)
	1.53	(3H, d, J=6.5Hz)
	1.45	(1H, m)

1.14 (6H, d, J=7Hz)

1.02 (3H, d, J=6.5Hz)

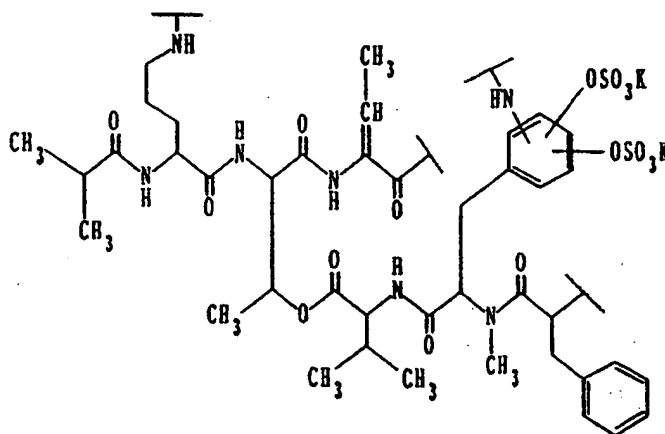
1.00 (3H, d, J=6.5Hz)

アミノ酸分析：

- 5 WS 7 6 2 2 Aジ硫酸エステルのカリウム塩 (1 mg) を 6 規定塩酸 (1 ml)、110℃、20時間の条件で加水分解し、減圧乾固して得た混合物を日立835型自動アミノ酸分析計により測定した。アミノ酸スタンダード標品として、和光純薬工業(株)のタイプH(和光コード番号013-08391)とタイプB(016-08641)を使用した。

その結果、トレオニン、バリン、フェニルアラニン、オルニチン、アンモニアと数種の未知のニンヒドリン陽性成分が検出された。

- 15 WS 7 6 2 2 Aジ硫酸エステルのカリウム塩の部分化学構造式として、次のような式が提案される。



- 20 WS 7 6 2 2 Aモノもしくはジ硫酸エステルの医薬として許容される塩としては、例えばアルカリ金属塩(たとえば、ナトリウム塩、カリウム塩など)、アルカリ土類金属塩(たとえばカルシウム塩など)、アンモニウム塩、エタノールアミン塩、トリエチルアミ

ン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、ピリジン塩などの、無機塩基あるいは有機塩基とのモノもしくはジ塩を挙げることができる。

- 上記WS7622Aモノもしくはジ硫酸エステル合成のため
の出発物質であるWS7622A物質もヒト白血球エラスターゼ
5 阻害活性を有し、難治性創傷の治療剤として使用できる。該物質
は次のような物理化学的性質を有する物質として知られている

(特開平3-218387号公報、特開平4-279600号公報)。

WS7622A物質の物理化学的性質：

- 10 外観：無色プリズム晶

物質の性質：酸性

呈色反応：陽性：硫酸セリウム反応、沃素蒸気反応、塩化第二鉄反
応

陰性：ニンヒドリン反応、モーリッシュ反応、ドラーゲ

- 15 シンドルフ反応溶解性：可溶：メタノール、エタ
ノール、n-ブタノール

微溶：クロロホルム、アセトン、酢酸エチル

不溶：水、n-ヘキサン

薄層クロマトグラフィー (TLC)：

- 20 クロロホルム-メタノール (5：1、v/v)

Rf値 0.51

アセトン-メタノール (10：1)

Rf値 0.62

(キーゼルゲル60F₂₅₄シリカゲルプレート、メルク社)

- 25 融点：250～252℃ (分解)

比旋光度： $[\alpha]^{23}_D$ +36° (C=1、メタノール)

UVスペクトル： λ^{max}_{MeOH} 287 nm (ϵ =3600)

$\lambda_{\text{MeOH-HCl}}^{\text{max}}$ 287 nm

$\lambda_{\text{MeOH-NaOH}}^{\text{max}}$ 298 nm

分子式: $\text{C}_{47}\text{H}_{63}\text{N}_9\text{O}_{13}$

元素分析:

5 計算値: $(\text{C}_{47}\text{H}_{63}\text{N}_9\text{O}_{13} \cdot 2\text{H}_2\text{O})$:

C 56.56, H 6.77, N 12.63 %

実測値: C 56.65, H 6.62, N 12.27 %

分子量: FAB-MS m/z 984 $(\text{M}+\text{Na})^+$

赤外吸収スペクトル:

10 ν^{KBr} max 3400, 3300, 3060, 2980, 2940, 1735, 1710, 1690, 1670, 1660, 1640, 1540, 1520, 1470, 1380, 1330, 1300, 1260, 1220, 1200, 1160, 1130, 1090, 1000, 980, 940, 920 cm^{-1}

^1H 核磁気共鳴スペクトル:

15 (400MHz, CD_3OD) δ

7.22-7.09 (3H, m)

6.88-6.77 (3H, m)

6.74 (1H, s)

6.46 (1H, s)

20 5.46 (1H, m)

5.18 (1H, s)

4.85 (1H, s)

4.77 (1H, m)

4.65 (1H, m)

25 4.50 (1H, m)

3.96 (1H, m)

3.91 (1H, d, $J=9\text{Hz}$)

	3.60-3.47	(2H, m)
	3.03	(1H, m)
	2.90	(3H, s)
	2.86	(1H, m)
5	2.59-2.49	(2H, m)
	2.39	(1H, m)
	2.29-2.16	(2H, m)
	2.00	(1H, m)
	1.84	(1H, m)
10	1.74	(3H, d, J=6Hz)
	1.72-1.53	(4H, m)
	1.44	(3H, d, J=6Hz)
	1.12	(1H, m)
	1.10	(6H, d, J=6Hz)
15	0.99	(3H, d, J=6Hz)
	0.94	(3H, d, J=6Hz)

^{13}C 核磁気共鳴スペクトル :

(100MHz, CD_3OD) δ

	179.7	(s)
20	176.3	(s)
	174.7	(s)
	173.3	(s)
	172.4	(s)
	171.4	(s)
25	170.3	(s)
	165.8	(s)
	160.2	(s)

	145.7	(s)
	145.6	(s)
	137.5	(s)
	134.0	(d)
5	131.4	(s)
	130.6	(d) × 2
	129.8	(s)
	129.1	(d) × 2
	129.1	(s)
10	127.6	(d)
	119.1	(d)
	118.0	(d)
	76.0	(d)
	73.4	(d)
15	63.1	(d)
	61.4	(d)
	57.1	(d)
	53.6	(d)
	52.7	(d)
20	50.5	(d)
	39.9	(t)
	36.1	(t)
	35.8	(d)
	31.8	(q)
25	31.0	(t)
	30.8	(d)
	29.9	(t)

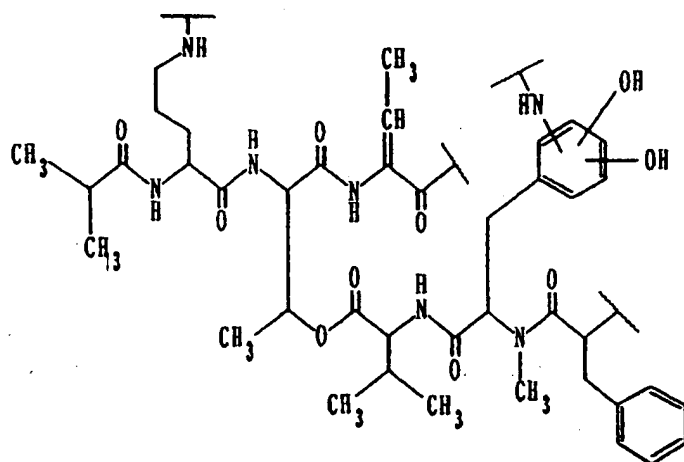
	29.7	(t)
	25.2	(t)
	22.3	(t)
	20.2	(q)
5	20.0	(q) × 2
	19.7	(q)
	19.5	(q)
	13.3	(q)

アミノ酸分析：

- 10 WS 7 6 2 2 A (1 mg) を 6 規定塩酸 (1 ml) 、 1 1
 0℃、20時間の条件で加水分解し、減圧乾固して得た混合物を
 日立 8 3 5 型自動アミノ酸分析計により測定した。アミノ酸スタ
 ンダード標品として、和光純薬工業 (株) のタイプ H (和光コー
 ド番号 0 1 3 - 0 8 3 9 1) とタイプ B (0 1 6 - 0 8 6 4 1)
 15 を使用した。

その結果、トレオニン、バリン、フェニルアラニン、オルニチ
 ン、アンモニアと数種の未知ニンヒドリン陽性成分が検出された。

WS 7 6 2 2 A の部分化学構造式として、次のような式が提案さ
 れる：



WS 7 6 2 2 A物質の塩としては、アルカリ金属塩（たとえば、ナトリウム塩、カリウム塩など）、アルカリ土類金属塩（たとえば、カルシウム塩など）、アンモニウム塩、エタノールアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩などの、無機塩基または有機塩基との塩が挙げられる。

同様にヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有するWS 7 6 2 2 B、CおよびD物質、ならびにそれらの誘導体（特開平3-218387号公報）も難治性創傷の治療剤として使用できる。

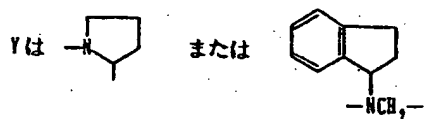
上記WS 7 6 2 2 A物質（WS 7 6 2 2 B、CおよびD物質も同様）は例えばストレプトミセス・レシストミシフィクス（*Streptomyces resistomyticus*）No. 7 6 2 2株の培養によって製造することができ、該菌株はブダペスト条約に基く国際寄託機関である工業技術院生命工学工業技術研究所に、寄託番号FERM BP-2306の下に寄託されている。

15 (2) 式：



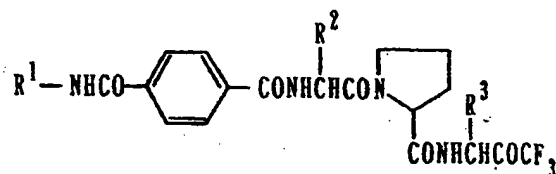
[式中、 R^1 はカルボキシ、エステル化されたカルボキシおよびジ-低級アルキルカルバモイルから選ばれた1または2の置換基を有する低級アルキル基；フェニル部分にハロゲン、アミノまたはニトロ、アルキル部分にカルボキシまたはエステル化されたカルボキシを有していてもよいフェニル（低級）アルキル基；ハロフェニル基；モルホリノ基；またはモルホリノ（低級）アルキル基を、 R^2 および R^3 はそれぞれ低級アルキル基を、Xは-または-NH-

20 を、



をそれぞれ意味する] で示されるトリフルオロメチルケトン誘導体およびその医薬として許容される塩。

(3) 式:



5

(式中、R¹ ~ R³ は上記 (2) の化合物と同じ意味) で示されるトリフルオロメチルケトン誘導体およびその医薬として許容される塩。

(4) 3 (RS) - [[4 - (カルボキシメチルアミノカルボニル) フェニルカルボニル] - L - バリル - L - プロリル] アミノ - 1, 1, 1 - トリフルオロ - 4 - メチル - 2 - オキソペンタンまたはそのナトリウム塩

上記 (2) ~ (4) に記載の化合物は、例えば特開平 4 - 2 9 7 4 4 6 号公報に記載されている公知化合物である。また、(2) ~ (4) の化合物の医薬として許容される塩としては、アルカリ金属塩 (たとえばナトリウム塩、カリウム塩など)、アルカリ土類金属塩 (たとえばカルシウム塩など)、アンモニウム塩、エタノールアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩などの無機または有機塩基との塩およびメタンスルホン酸塩、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩などの有機または無機酸付加塩を挙げることができる。

20

前記定義の好適な例を以下に詳細に説明する。「低級」とは、特記ない限り、炭素原子数 1 ないし 6 を意味する。好適な「ハロゲ

ン」の例としては弗素、塩素、臭素および沃素が挙げられる。好適な「低級アルキル基」としては、炭素原子1ないし6個を有する直鎖および分枝アルカンの残基、たとえばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、*t*-ブチル、ペンチル、

- 5 ネオペンチル、ヘキシルなど、好ましくは炭素原子1ないし4個を有するものを挙げることができる。好適な「エステル化されたカルボキシ基」としては、アルキルエステル、すなわち、アルコキシカルボニル、たとえば低級アルコキシカルボニル（たとえばメトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、*t* e r t -ブトキシカルボニルなど）およびフェニル（低級）アルキルエステル、すなわち、フェニル（低級）アルコキシカルボニル、たとえばベンジルオキシカルボニル、ならびにベンゾイル（低級）アルキルエステル、すなわち、ベンゾイル（低級）アルコキシカルボニル、たとえばベンゾイルメトキシカルボニルなどを挙げることができる。
- 10
- 15

好適な「低級アルキレン基」としては、メチレン、エチレン、プロピレン、イソプロピレンなどを挙げることができる。好適な「ジ低級アルキルカルバモイル基」としては、N, N-ジメチルカルバモイル、N, N-ジエチルカルバモイルなどを挙げることができる。

20

(5) 下記の物理化学的性質を有するFR 901451物質およびその医薬として許容される塩：

外観：白色粉末

呈色反応：陽性：硫酸セリウム、ヨウ素蒸気、エールリッヒ、ニン
25 ヒドリン

陰性：モーリッシュ

溶解性：可溶：水、メタノール、ジメチルスルホキシド

難溶：アセトン

不溶：酢酸エチル

融点：243～245℃（分解）

比旋光度： $[\alpha]^{23}_D -15^\circ$ (C=0.65, H₂O)

5 紫外線吸収スペクトル： $\lambda^{max}_{\text{MeOH}}$ nm(ϵ) 275 (4300),
281 (4500), 290 (3900)

分子式： $C_{60}H_{79}N_{13}O_{18}$

元素分析： $C_{60}H_{79}N_{13}O_{18} \cdot 10H_2O$ としての

計算値：C 49.68, H 6.88, N 12.55

10 実測値：C 49.95, H 6.28, N 12.42

分子量：FAB-MS m/z 1270 (M+H)⁺

薄層クロマトグラフィー：

固定相	展開溶媒	Rf値
シリカゲル (メルク)	CHCl ₃ : MeOH : NH ₄ OH (15 : 11 : 5)	0.60
RP-18 (メルク)	70%含水メタノール	0.32

F T 赤外線吸収スペクトル：

15 ν^{max}_{KBr} 3390, 3070, 2970, 2880, 1740, 1660, 1530, 1450, 1410, 1380, 1350, 1250, 1190, 1110, 1080, 1010,
750, 700, 670, 660, 620, 600 cm⁻¹

¹H核磁気共鳴スペクトル：

(400MHz, D₂O) δ

20 7.70 (1H, d, J=7Hz)
7.52 (1H, d, J=7.5Hz)
7.44-7.23 (7H, m)
7.22 (1H, s)
5.59 (1H, q, J=7Hz)

	4.94	(1H, t, J=4.5Hz)
	4.85-4.74	(3H, m)
	4.58	(1H, dd, J=6Hz, 10Hz)
	4.45-4.35	(3H, m)
5	4.30	(1H, dd, J=4Hz, 7Hz)
	4.07	(1H, m)
	3.99	(1H, dd, J=10Hz, 4.5Hz)
	3.66-3.50	(3H, m)
	3.44-3.25	(4H, m)
10	3.16-2.93	(4H, m)
	2.87	(1H, d, J=18Hz)
	2.80-2.68	(2H, m)
	2.56-2.48	(2H, m)
	2.08	(1H, dd, J=16Hz, 4Hz)
15	1.87-1.53	(9H, m)
	1.43	(3H, d, J=7Hz)
	1.30	(3H, d, J=6.5Hz)
	1.45-1.17	(4H, m)
	0.95	(3H, d, J=6Hz)
20	0.84	(3H, d, J=6Hz)

¹³C 核磁気共鳴スペクトル:(100MHz, D₂O) δ

	177.2 (s)	130.0 (d) × 2	56.0 (d)	31.4 (t)
	176.5 (s)	129.8 (d) × 2	54.1 (d)	28.8 (t)
25	174.6 (s)	128.5 (d)	53.8 (d)	26.6 (t)
	174.2 (s)	127.8 (s)	53.2 (d)	25.1 (d)
	174.0 (s)	125.5 (d)	53.1 (d)	23.2 (q)

	173.2 (s)	123.2 (d)	52.9 (d)	23.2 (t)
	173.0 (s)	120.9 (d)	52.8 (d)	23.1 (t)
	172.8 (s)	118.7 (d)	49.5 (d)	20.8 (q)
	172.6 (s)	113.1 (d)	48.6 (t)	19.4 (q)
5	172.5 (s)	108.8 (s)	40.1 (t)	18.3 (q)
	172.1 (s)	73.3 (d)	39.6 (t)	
	171.7 (s)	69.7 (d)	39.4 (t)	
	171.4 (s)	64.3 (t)	38.9 (t)	
	170.3 (s)	62.1 (d)	35.3 (t)	
10	137.2 (s)	60.9 (d)	34.8 (t)	
	136.0 (s)	57.1 (d)	31.7 (t)	

上記FR901451物質はフレキシバクター (Flexibacter) 属のFR901451物質生産菌が生産する物質として知られている (例えば、国際公開番号: WO93/02203号公報)。また該生産菌の1株フレキシバクター・sp No. 758株はブダペスト条約に基く国際寄託機関である工業技術院生命工学工業技術研究所に、寄託番号FERMBP-3420として寄託されている。

また、上記FR901451物質の医薬として許容される塩としては、前記(2)～(4)に記載の化合物の医薬として許容される塩として例示した塩がそのまま例示される。

上記のほか、エラスターゼ阻害活性を有する物質の例として、 α 1-アンチトリプシン、SLP1 (Secretory Leukocyte Protease Inhibitor) (American Review of Respiratory Disease Vol. 147、1993、P442-446)、ウリナスタチン、コルヒチン、エリスロマイシン、クラリスロマイシン、

ICI 200、880、ONO-5046 (American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine Vol. 153、P391-397)、抗エラスターゼ抗体等が挙げられる。

- 5 この発明の難治性創傷の例としては、皮膚（例えば、褥瘡（床擦れ）、糖尿病に伴う足の潰瘍等）、足、胃および角膜等の潰瘍等が挙げられ、これらのうち、糖尿病に伴う足の潰瘍等の難治性皮膚潰瘍の治療にとくに好適である。

- この発明の難治性創傷の治療剤は、例えば難治性皮膚潰瘍の場合
10 には通常は外用剤（例えば、ローション剤、軟膏剤、貼付剤、リニメント剤、エアゾール剤、懸濁剤、乳剤等）として使用されるが、このほか散剤、細顆粒剤、顆粒剤、錠剤、糖衣錠、注射剤、吸入剤、マイクロカプセル剤、カプセル剤、坐剤、液剤、シロップなどの慣用の医薬製剤の形で使用可能である。必要な場合、希釈剤または崩解剤（たとえば蔗糖、乳糖、澱粉、結晶性セルロース、低置換
15 ヒドロキシプロピルセルロース、合成ケイ酸アルミニウムなど）、結合剤（たとえばセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリプロピルピロリドン、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、アラビアゴム、ポリエチレングリコールなど）、着色剤、甘味剤、滑沢剤（た
20 えばステアリン酸マグネシウムなど）その他を分散配合することができる。

- この発明の難治性創傷の治療剤の使用量は、症状等にもよるが、一般に外用剤においては、ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質またはその医薬として許容される塩として0.001~1
25 0%程度の範囲で使用するのが適当である。

次にこの発明の効果を試験例により説明する。

試験例（糖尿病ラット足潰瘍治癒促進作用）

目的：

この発明の化合物（塗布）の酢酸誘発足潰瘍に対する作用を、正常ラットと糖尿病ラットを用いて検討した。

5 使用化合物：

3(RS)-[[4-(カルボキシメチルアミノカルボニル)フェニルカルボニル]-L-バリル-L-プロリル]アミノ-1,1,1-トリフルオロ-4-メチル-2-オキソペンタンのナトリウム塩 (FR136706)

10 方法：

7週齢雄性SDラットに60mg/kgのstreptozotocin (STZ) を尾静脈内投与し糖尿病を誘発した。STZ投与14日後、糖尿病ラットおよび同週齢の対照ラットにエーテル麻酔で左足甲部皮内に氷酢酸20 μ Lを投与し、その部分を壊死させた。その2日後に壊死した表皮が

15 残っていた場合、外科的に除去した。その後、FR136706 (0.2%溶液、PEG (ポリエチレングリコール) 400に溶解) の投与 (患部に50 μ Lずつ塗布) を開始した。対照群にはPEG400を同様に塗布した。

酢酸投与の2日後より25日後まで、腫脹スコア (0：なし、

20 1：軽度、2：中程度、3：高度) を目視により評価し、また、潰瘍の長径と短径をノギスにて測定した。潰瘍面積は潰瘍の長径と短径から算出した。

結果：

結果は次表に示す通りである。

25 正常ラットの腫脹スコアは測定開始日が最大であった。その後徐々に回復し、酢酸投与22日後には腫脹スコアは0となった。一方、糖尿病ラットでは、腫脹のピークは酢酸投与7日後に見られ、

その後徐々に回復したものの、その経過は正常ラットよりも遅延していた。FR 1 3 6 7 0 6 は、正常ラットでは作用を示さなかったが、糖尿病ラットでは回復を促進させた。

- 5 糖尿病ラットの潰瘍面積は正常ラットよりも大きく、また、その縮小は正常ラットよりも遅延していた。FR 1 3 6 7 0 6 は、正常ラットでは作用を示さなかったが、糖尿病ラットでは潰瘍面積の縮小を促進させている傾向が認められた。

足潰瘍モデルに対する作用

動物	検体	投与量 (%)	スコア						
			腫脹スコア						
			酢酸 投与 2日後	酢酸 投与 8日後	酢酸 投与 11日後	酢酸 投与 15日後	酢酸 投与 18日後	酢酸 投与 22日後	酢酸 投与 25日後
正常 ラット	PEG400		2.5 ±0.2 (6)	2.3 ±0.2 (6)	1.8 ±0.2 (6)	1.0 ±0.0 (6)	0.3 ±0.2 (6)	0.0 ±0.0 (6)	0.0 ±0.0 (6)
	FR136706	0.2	2.5 ±0.2 (6)	2.0 ±0.0 (6)	1.5 ±0.2 (6)	1.0 ±0.0 (6)	0.5 ±0.2 (6)	0.0 ±0.0 (6)	0.0 ±0.0 (6)
糖尿病 ラット	PEG400		2.2 ±0.2 (6)	2.8 ±0.2 (6)	* 2.7 ±0.2 (6)	** 2.2 ±0.3 (6)	** 2.0 ±0.3 (6)	** 1.7 ±0.3 (6)	** 1.5 ±0.2 (6)
	FR136706	0.2	2.2 ±0.2 (6)	2.8 ±0.2 (6)	2.5 ±0.2 (6)	1.5 ±0.2 (6)	1.5 ±0.2 (6)	1.2 ±0.2 (6)	& 0.7 ±0.2 (6)

平均値±標準誤差（例数）

&, && : 各々5%, 1%で有意 (Wilcoxon順位和検定)

[スコア]

[糖尿病ラット, PEG400群と糖尿病ラット, FR136706, 0.2%群のスコア, 測定日毎]

*, **: 各々5%, 1%で有意 (Wilcoxon順位和検定)

[スコア]

[正常ラット, PEG400群と糖尿病ラット, PEG400群のスコア, 測定日毎]

足潰瘍モデルに対する作用

動物	検 体	投与量 (%)	潰瘍面積 (mm ²)						
			酢酸 投与 2日後	酢酸 投与 8日後	酢酸 投与 11日後	酢酸 投与 15日後	酢酸 投与 18日後	酢酸 投与 22日後	酢酸 投与 25日後
正常 ラット	PEG400		58.88 ± 4.31 (6)	70.29 ± 6.13 (6)	52.61 ± 6.36 (6)	24.99 ± 2.82 (6)	1.51 ± 0.78 (6)	0.00 ± 0.00 (6)	0.00 ± 0.00 (6)
	FR136706	0.2	58.37 ± 6.08 (6)	71.42 ± 8.43 (6)	53.21 ± 5.11 (6)	18.32 ± 4.55 (6)	0.69 ± 0.36 (6)	0.00 ± 0.00 (6)	0.00 ± 0.00 (6)
糖尿病 ラット	PEG400		69.28 ± 5.33 (6)	95.58 ± 8.62 (6)	86.03 ± 7.71 (6)	51.63 ± 6.12 (6)	23.38 ± 1.42 (6)	15.94 ± 3.90 (6)	11.05 ± 1.68 (6)
	FR136706	0.2	69.17 ± 5.64 (6)	91.77 ± 6.16 (6)	72.38 ± 10.37 (6)	41.00 ± 10.80 (6)	16.10 ± 6.43 (6)	12.08 ± 3.73 (6)	6.99 ± 1.71 (6)

平均値 ± 標準誤差 (例数)

*, **: 各々5%, 1%で有意 (Student-t or Aspin-Welch)

[潰瘍面積]

5 [正常ラット, PEG400群と糖尿病ラット, PEG400群の測定日毎]

請求の範囲

1. ヒト白血球エラスターゼ阻害活性を有する物質を有効成分とする難治性創傷の治療剤。

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K45/00, A61P17/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K45/00, A61P17/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN),
 REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HEINZEL-WIELAND, R. et al, "Inhibitory characteristics and oxidant resistance of site specific variants of recombinant human antileukoproteinase (ALP).", BIOMEDICA BIOCHIMICA ACTA, 1991, Vol.50 No.4-6, pp.677-81, especially, Abstract	1
X	EP, 494071, A2 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 08 July, 1992 (08.07.92), Full text, especially, Claim 6, 13-20 & US, 5296591, A & JP, 04-297446, A & EP, 494071, A3 & EP, 494071, B1 & FI, 9105996, A & AU, 9189853, A1 & AU, 641577, B2 & JP, 06-099378, B & RU, 2073684, C1 & CA, 2058560, AA & CN, 1063108, A & CN, 1040003, B & HU, 60507, A2 & HU, 210263, B & ZA, 9110200, A & NO, 9200035, A & AT, 151775, E & ES, 2099755, T3	1
A	WO, 8600077, A1 (CORTECH, INC.), 03 January, 1986 (03.01.86),	1

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
 19 December, 2000 (19.12.00)

Date of mailing of the international search report
 26 December, 2000 (26.12.00)

Name and mailing address of the ISA/
 Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06873

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	<p>Abstract, Claims & EP, 182906, A1</p>	

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K45/00, A61P17/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K45/00, A61P17/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN),
REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	HEINZEL-WIELAND, R. et al, "Inhibitory characteristics and oxidant resistance of site specific variants of recombinant human antileukoprotease (ALP).", BIOMEDICA BIOCHIMICA ACTA, 1991, Vol. 50 No. 4-6, pp. 677-81, 特に、Abstract	1

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19. 12. 00

国際調査報告の発送日

26.12.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

滝下 浩一

4C 9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP, 494071, A2 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 08. 7月. 1992 (08. 07. 92) 文献全体、特に、 Claim 6, 13-20 &US, 5296591, A&JP, 04-297446, A &EP, 494071, A3&EP, 494071, B1 &FI, 9105996, A&AU, 9189853, A1 &AU, 641577, B2&JP, 06-099378, B &RU, 2073684, C1&CA, 2058560, AA &CN, 1063108, A&CN, 1040003, B &HU, 60507, A2&HU, 210263, B &ZA, 9110200, A&NO, 9200035, A &AT, 151775, E&ES, 2099755, T3	1
A	WO, 8600077, A1 (CORTECH, INC.) 03. 1月. 1986 (03. 01. 86) Abstract, Claims &EP, 182906, A1	1